

ПРИМЕНА НА ДЕНДРИМЕРИ КАКО СОВРЕМЕНА ПЛАТФОРМА ЗА ИСПОРАКА НА ЛЕКОВИ

Автори:

Доц. д-р Елена Дракалска Серсегова

Проф. д-р. Бистра Ангеловска

М-р. Наташа Митева

Вовед

Испораката на терапевтски активни супстанции до целното ткиво претставува огромен проблем во терапијата на многу болести. Конвенционалната терапија се карактеризира со слаба биорасположивост, намалена ефективност, несакани ефекти и намалена селективност. Со цел да се надминат овие проблеми, како потенцијална стратегија е инкорпорирање на активните супстанции во наночестички. Како носачи на различни видови лекови, наночестичките обезбедуваат контролирана испорака на активната супстанца до целното ткиво, заштита од брза деградација и клиренс и висока терапевтска концентрација. Постигнувањето на оптималната терапевтска концентрација со помош на наночестички во таргет ткивата ја налага потребата и од пониска доза на активната супстанца. Контролирањето на терапевтската концентрација на активната супстанца е од клучно значење за постигнување на оптимални резултати со минимизирани несакани ефекти.

Современите методи кои се користат за изработка на наночестиците обезбедуваат намалување на димензиите на истите што обезбедува уникатни физичко-хемиски и биолошки карактеристики. Примената на овие методи ги прават нано-структурите едни од преферираните материјали за биомедицинска апликација, со исклучително значење и примена за фармацевтски цели. Во прилог, начинот на формулација како и употребата на појдовните материјали за изработка на наночестичките кои генерално се биодеградабилни предизвикува намалена токсичност, подобрување на ослободувањето на активната супстанца *in vitro* и *in vivo*, зголемување на растворливоста и оптимизација на биорасположливоста.

Како релативно нова генерација, дендримерите претставуваат предмет на проучување на голем број научници, поради карактеристичната разгранета структура што обезбедува низа можности за модификација и врзување на различни функционални групи на истата.

Дендримерите познати како каскадни молекули или високо разгранети полимери случајно биле откриени од Волт и неговите колеги во 1978 година. Зборот дендример потекнува од грчкиот збор „дендрон“ што значи дрво, асоцирано со разгранетата структура на истите. Секој меѓуслој од каскадната структура се нарекува „генерација“. Се карактеризираат со добро дефинирана

форма, големина и физичко-хемиски својства многу слични на протеините. Овие полимери се со скоро сферичен облик и дијаметар обично помеѓу 2 и 10 nm.

Дендримерите како платформи за испорака на лекови го реализираат овој ефект преку два можни пристапи. Хидрофобните лекови се инкорпорираат во хидрофобното јадро, додека хидрофилните ковалентно се врзуваат на површината на разгранетата структура на дендримерот. Исто така, новосинтетизираните дендримери обезбедуваат премин на лекот низ клеточните бариери, што овозможува постигнување на терапевтската концентрација во системската циркулација на инкорпорираниот лек.

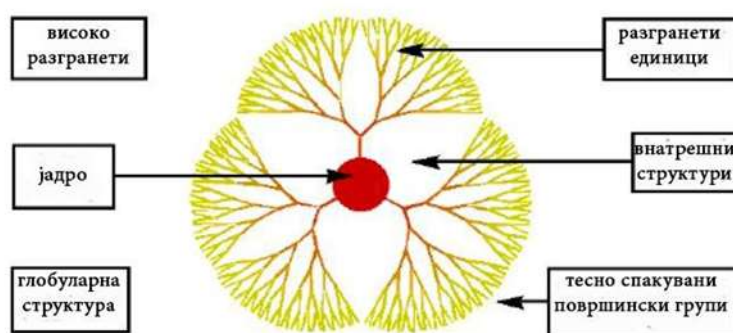
Од хемиски аспект, во градбата на дендримерите учествуваат пептиди, липиди или полисахариди. Овие нови структури претставуваат вистинска револуција во хемијата заради нивната исклучително прецизна и контролирана градба, давајќи предвидлива молекуларна маса, биоразградливост и биокомпатибилност.

Како тродимензионални, разгранети структури, дендримерите се карактеризираат со низок индекс на полидисперзност и молекулска маса од 5000-500 000 g/mol што варира во зависност од бројот на т.н. генерации.

Структура на дендримери

Структурата на дендримерите е претставена на слика број 1. Генерално, се истакнати три основни делови:

- иницијално јадро
- внатрешен слој составен од повторувачки единици, радијално прикачени на внатрешното јадро
- надворешен слој



Слика број 1. Структура на дендример

Јадрото ја одредува формата, големината и насоката на разгранување на дендримерите. Станува збор за мултифункционално иницијаторско јадро што

реагира со хемиски активирана фокусна точка (Y) на разгранет мономер за синтетизирање на првата генерација на дендримерите.

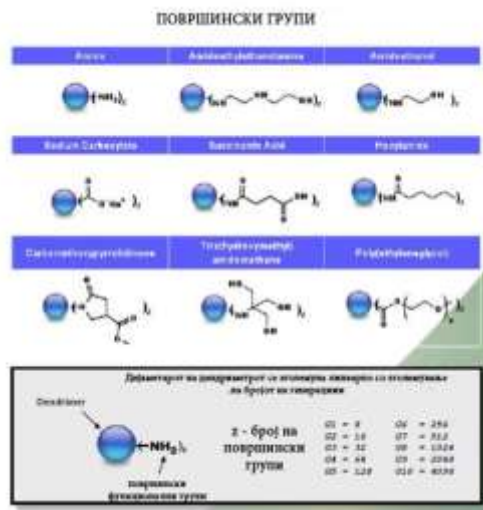
Надворешниот слој на дендримерот може да биде формиран од пасивни или реактивни терминални групи. Во овој дел се одвива полимеризацијата во која секоја нова генерација е ковалентно врзана за претходната. Површинските групи можат да служат како платформа за врзување на различни активни супстанции.

Од друга страна превземањето од страна на PEC, имуногеноста, цитотоксичноста и хемолитичката активност ја ограничуваат употребата на дендримерите.

Својства на дендримери

Дендримерите и дендроните се монодисперзни, вообичаено симетрични, сферични соединенија, со голема или мала молекулска маса. Во првата категорија спаѓаат дандемери и дендрони, а втората вклучува дендронизирани полимери.

Во својствата на дендримерите доминираат функционалните групи на молекуларната површина, односно со функционализирање на истата со помош на хидрофилни групи може да се постигне растворливост во вода на дендримерите. Другите контролирани својства на дендримерите вклучуваат токсичност, кристалност, формирање на текто-дендример и хиралност.



Слика број 2. Видови на функционални групи

Дендримерите исто така се класифицирани по генерација, што се однесува на бројот на повторувани циклуси на разгранување што се изведуваат за време на синтезата. На пример, ако дендримерот е направен со конвергентна синтеза, реакциите на разгранување се изведуваат три пати на јадрото и финалниот дендример се смета за дендример од трета генерација. Секоја последователна генерација резултира со дендример со приближно двојно

повисока молекуларна маса од претходната генерација. Дендримерите од повисоката генерација, исто така, имаат експресирани функционални групи на површината што можат да се користат за врзување на различни активни супстанции согласно посакуваниот финален ефект.

Резултати од клинички студии при третман на канцер со помош на дендримери

Дендримерите претставуваат потенцијални носачи на голем број фармаколошки активни супстанции и дијагностички препарати чија употреба денес сè повеќе се преферира поради намалената токсичност и насоченото и контролирано ослободување кон целните клетки. Поради нивната уникатна разгранета структура способна да инкорпорира липофилни и хидрофилни супстанции, дендримерите претставуваат кандидати за енкапсулирање на голем број антинеопластични препарати.

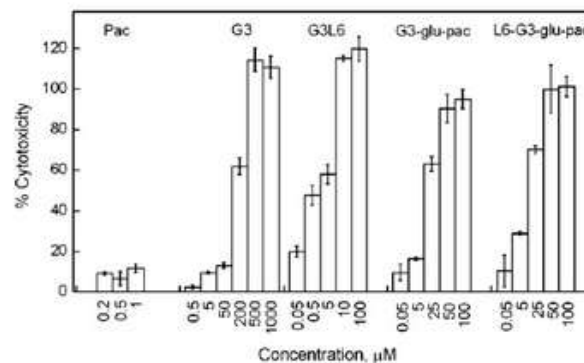
Најчестиот пристап кон терапијата на канцер е хемотерапијата. Терапевтската ефикасност на многу антинеопластици е лимитирана поради нивната слаба пенетрација во туморното ткиво и сериозните несакани ефекти кон здравите клетки. Во овој дел се дискутирани резултатите од клинички студии при инкорпорирање на најчесто користените антинеопластици во дендримерни формулации.

Резултати од клинички студии при инкорпорирање на паклитаксел

Паклитаксел претставува лек од прв избор при третман на рак на јајници, млечни жлезди, надбубрежни жлезди и слично. Нажалост, овој цитостатик се карактеризира со висока липофилност и бројни несакани ефекти, пред се периферна невропатија, брадикардија, хипотензија и слично. Современ пристап за надминување на несаканите реакции и оптимизирање на растворливоста е инкорпорирање во дендримери.

Со цел да се подобри пермеабилноста во 2012 година била спроведена студија со трета генерација ПАМAM дендримери, чија површина била модифицирана со ланци од лауринска киселина. Паклитакселот бил конјугиран за површината со помош на анхидрид на glutарна киселина. Ефикасноста на комплексот била тестирана врз две групи на клетки: аденокарцином изолиран од

колон и ендотелни туморни клетки од мозок. Цитотоксичноста била тестирана со помош на LDH тест и резултатите покажале значително повисока цитотоксичност врз двете изолирани клетки и повисока пермеабилност споредено со плацебото. Резултатите се претставени на слика број...

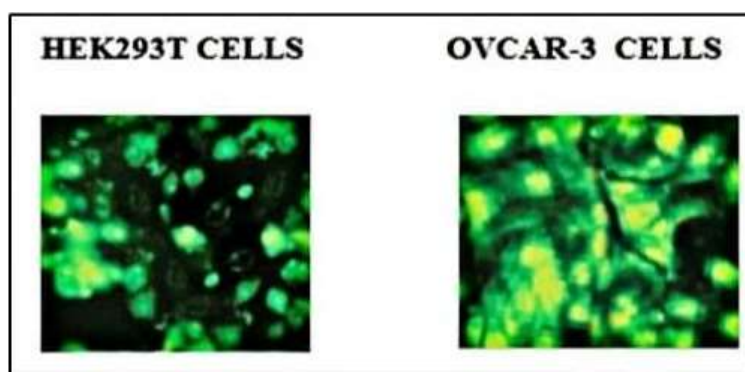


Слика број 3. Цитотоксичност на модифицираниот дендример со конјугиран паклитаксел

Од презентираниите резултати е евидентно дека конјугирањето на паклитаксел со тестираниот дендример покажува значително повисока цитотоксичност во пониски концентрации, споредено со слободниот паклитаксел. Зголемената цитотоксичност веројатно се должи на зголемената растворливост во вода на паклитакселот и подобрената пермеација низ тестираните клетки. Подобрената пермеација е поврзана со промена во површината на дендримерот со ланците од лауринска киселина, што се карактеризираат со висока хидрофобност и влегуваат во интеракција со плазма мембраната.

Во друга студија, паклитакселот бил енкапсулиран во дендример модифициран со биотин, со присуство на примарна amino група за третман на оваријален канцер. Финалниот комплекс бил со димензии од 8 нм и стабилен 7 дена на собна температура. Пристапот за конјугирање на биотин на површината на дендримерот е применет за да се обезбеди насочена испорака на паклитакселот поради фактот што клетките од оваријалниот канцер имаат експресирани биотински рецептори.

Од спроведените проучувања, забележано е дека комплексот дендример-РТХ е поефикасен од слободниот РТХ во малигните клетки на овариумот. Податоци за клеточното превземање на комплексот покажале успешна акумулација во истите и зголемена биорасположивост. Свкупните резултати го потврдиле фактот дека тестираниот ПАМAM дендример поседува потенцијал за насочена испорака на паклитаксел. Со помош на FITC обележување било детектирана интернализацијата на модифицираниот дендример во малигни и здрави клетки. Резултатите се претставени на слика број 3.



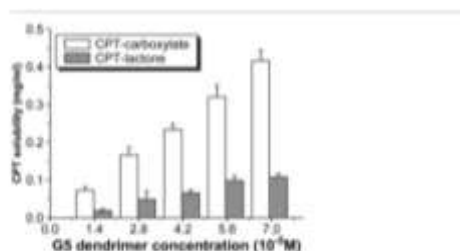
Јасно може да се забележи дека интензитетот на флуоресценција од OVCAR-3 клетките е поголем во однос на HEK293T. Тоа укажува на зголемената способност на малигните клетки за превземање на биотин-дендример Paclitaxel комплексот во однос на здравите клетки.

Резултати од клинички студии при инкорпорирање на камптотецин

Камптотецинот е растителен алкалоид изолиран од *Camptotheca acuminata*. Претставува моќен антиканцероген агенс против широк спектар на човечки карциноми, вклучувајќи рак на белите дробови, простата, градите, дебелото црево, желудникот, мочниот меур и јајниците. Поради ниската растворливост во вода и исклучителната токсичност, асоцирана со бројни несакани ефекти, извршени се бројни клинички студии при кои истиот бил инкорпориран во различни видови наночестички. Како потенцијални кандидати за испорака на камптотецинот се дендримерите.

Со цел да се зголеми растворливоста во вода, Ченг и соработниците направиле формулација во која камптотецинот бил енкапсулиран во ПАМAM дендример од петта генерација. Резултатите од спроведената студија покажале дека растворливоста на камптотецинот значително се зголемила при

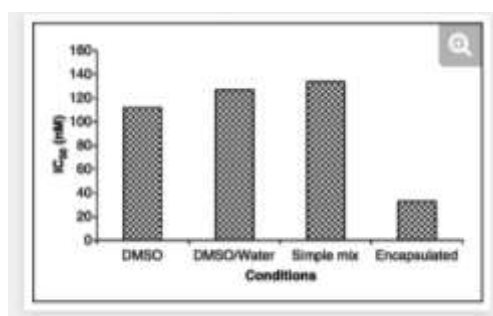
зголемување на концентрацијата на дендримерот. Резултатите се претставени на слика број...



Слика број. Зголемување на растворливоста во вода на кампотецин по инкорпорирање во дендример

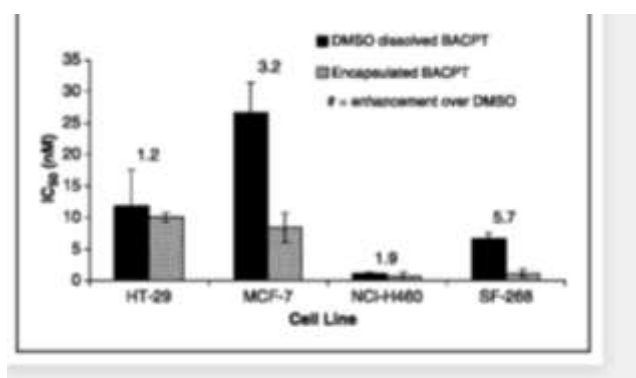
Потенцијалот на дендримерите како носачи за испорака на камптотецин бил потврден и при тестирање на комплексот врз четири видови туморни клетки: аденокарцином на дојка (MCF-7), колоректален канцер, глиобластом и неситноклеточен канцер на бели дробови. Резултатите од спроведените студии покажале зголемена растворливост во вода и превземање од страна на малигните клетки. При третирање на MCF-7 клетките со камптотецин енкапсулиран во тестираните дендримери од петта генерација во текот на 48 часа била забележена 16 пати повисока ретенција на антинеопластикот, споредено со третирање со слободниот агенс.

На слика број... е претставена антитуморната активност на дериват на камптотецин одобрен од страна на FDA, енкапсулирани во ПАМAM дендример од петта генерација при третирање на HT-29 клетки изолирани од колоректален карцином.



Евидентно е дека IC_{50} на енкапсулираниот камптотецин во тестираниот дендример е 32.3 nM, што е 3.5 пати повисока потентност споредено со камптотецинот во раствор од DMSO.

Понатаму, бил тестиран липофилниот аналог на камптотецин со потенцирана цитотоксичност, веројатно поради структурната сличност што ја зголемува интеракцијата со DNA-топоизомеразата. Резултатите од клиничката студија се претставени на слика број...



Од претставените резултати јасно се гледа дека липофилниот дериват на камптотецинот енкапсулиран во ПАМAM дендример поседува значително повисока антитуморна активност, споредено со DMSO растворот на антинеопластикот.

Заклучок

Резултатите од клиничките студии потврдуваат дека дендримерите претставуваат одлични потенцијални системи за испорака на лекови.

И покрај бројните предности со кои располагаат, сепак, постојат одредени недостатоци што ја ограничуваат нивната примена. Генерално, станува збор за комплексниот процес на производство што во одредени случаи предизвикува ниска ефективност на енкапсулирање и можност од појава на агрегација и фузија на активната супстанца во водената дисперзија што го лимитира полу-животот на истата. Затоа, дендримерите се предмет на понатамошни, долгогодишни истражувања што ќе гарантираат добивање на сигурни, ефикасни и безбедни комерцијално достапни формулации.

Користена литература:

1. CHENG, Yiyun et al. Dendrimers the drug carriers: applications in different routes of drug administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(1), 2008, 123-143.
2. SVENSON, Sonke. Dendrimers versatile platform in the drug delivery applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, USA, 71(3), 2009, 445-462.
3. OLIVEIRA, Joaquim Miguel et al. Dendrimers and derivatives as a potential therapeutic tool in regenerative medicine strategies - A review. *Progress in Polymer Science*, USA, 35(9), 2018, p. 1163-1194.
4. MEDINA, Scott H., EL-SAYED, Mohamed E. H. 2017 Dendrimers carriers for the delivery of chemotherapeutic agents. *Chemical Reviews*, 109(7), 2009, 3141-3157.
5. VANDAMME, Th F.; Brobeck, L. Poly (amidoamine) Dendrimers the ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide. *Journal of Controlled Release*, 102(1), 2015, 23-38.
6. HOLDEN, Christopher A. et al. Polyamidoamine dendrimer hydrogel is enhanced delivery of antiglaucoma drugs. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2016.
7. BHADRA, D. et al. A PEGylated dendritic nanoparticulate carrier of fluorouracil. *International Journal of Pharmaceutics*, 257(1-2), 2013, 111-124.
8. MALIK, N.; Evagorou, E. G, Duncan, R. Dendrimer-platinate: A novel approach to cancer chemotherapy. *Anticancer Drugs*, 10(8), 2010, 767-776.